



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

UNIDAD ACADÉMICA DE MEDICINA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN ESPECIALIZADA EN MICROBIOLOGÍA

MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

**“INTERACCIÓN DEL CONSUMO DE SAL CON
POLIMORFISMOS EN EL CANAL EPITELIAL DE SODIO
Y SU RELACIÓN CON PRESIÓN ARTERIAL ALTA EN
POBLACIÓN GUERRERENSE.”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

PRESENTA

Q.B.P. LIZETH ALEJANDRA VEGA HILARIO.

DIRECTOR DE TESIS: Dr. LORENZO SALGADO GOYTIA.

Co-DIRECTORA: Dra. ALEJANDRA GPE. GARCÍA ZAPIÉN.

CHILPANCINGO, GRO., ENERO DEL 2017.

**“INTERACCIÓN DEL CONSUMO DE SAL CON
POLIMORFISMOS EN EL CANAL EPITELIAL DE SODIO Y
SU RELACIÓN CON PRESIÓN ARTERIAL ALTA EN
POBLACIÓN GUERRERENSE.”**

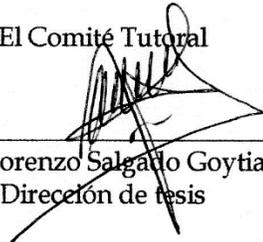


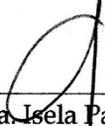
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS
FACULTAD DE MEDICINA
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN ESPECIALIZADA EN MICROBIOLOGÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

APROBACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Chilpancingo, Guerrero, siendo los 29 días del mes de septiembre de dos mil dieciséis, se reunieron los miembros del Comité Tutorial designado por la Academia de Posgrado de la Maestría en Ciencias Biomédicas, para examinar la tesis titulada "Interacción del consumo de sal con polimorfismos en el canal epitelial de sodio y su relación con presión arterial alta en población Guerrerense", presentada por la alumna Lizeth Alejandra Vega Hilario, para obtener el Grado de Maestría en Ciencias Biomédicas. Después del análisis correspondiente, los miembros del comité manifiestan su aprobación de la tesis, autorizan la impresión final de la misma y aceptan que, cuando se satisfagan los requisitos señalados en el Reglamento General de Estudios de Posgrado e Investigación Vigente, se proceda a la presentación del examen de grado.

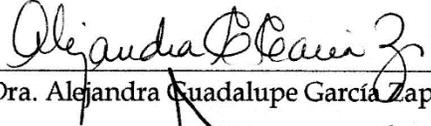
El Comité Tutorial


Dr. Lorenzo Salgado Goytia
Dirección de tesis

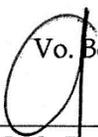

Dra. Isela Parra Rojas


Dr. Alejandro Millán Vega


Dr. Gerardo Huera Beristáin

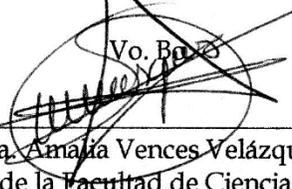

Dra. Alejandra Guadalupe García Zapién

Vo. Bo


Dra. Isela Parra Rojas
Coordinadora del Posgrado de la Facultad de
Ciencias Químico Biológicas

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO
 UAGRO
Unidad Académica de
Ciencias Químico Biológicas
DIRECCIÓN 2014-2018

Vo. Bo


Dra. Amalia Vences Velázquez
Directora de la Facultad de Ciencias Químico
Biológicas

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de investigación en obesidad y diabetes de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero, en Chilpancingo, Guerrero:

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

Dr. LORENZO SALGADO GOYTIA.

Co-DIRECCIÓN:

Dra. ALEJANDRA GPE. GARCÍA ZAPIÉN.

LA ASESORÍA DE

Dra. ISELA PARRA ROJAS.

Dr. ALEJANDRO MILLÁN VEGA.

Dr. GERARDO HUERTA BERISTAIN.

Durante el período en que cursó la Maestría en Ciencias Biomédicas, la C. LIZETH ALEJANDRA VEGA HILARIO, recibió beca del CONACYT.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Lorenzo Salgado Goytia, por su apoyo en la realización de este trabajo, sus consejos académicos y orientación durante las tutorías. Gracias por el tiempo invertido en este proyecto así como sus observaciones y enseñanzas.

A la Dra. Alejandra García Zapién por su asesoramiento y observaciones hechas en el trabajo.

A los sinodales, la Dra. Isela Parra, al Dr. Alejandro Millán y el Dr. Gerardo Huerta, muchísimas gracias por su aporte a este trabajo así como sugerencias para el mismo.

A mis compañeros del laboratorio al M.C. Jorge Barrera y a la Química Aralia por su ayuda en la enseñanza de técnicas del laboratorio.

A mi compañero Rubén Barrientos por sus ratos de aliento y motivación y su grata compañía. A mi compañera Constanza Cecilia por la ayuda y aportes que hizo en el proyecto. A mi compañero Julio Muñiz, gracias "yuyis" por tu ratos de motivación y por ese humor que te caracteriza. A todos ellos muchas gracias por permitirme convivir y compartir momentos gratos con ustedes. MUCHAS GRACIAS!

MUCHÍSIMAS GRACIAS! A mi amiga incondicional e intermitente Elena Salazar, gracias por ser mi amiga, hermana, confidente y por apoyarme en decisiones difíciles durante la maestría y todos estos años, gracias por tu amistad y aportar muchísimo en la realización de esta tesis, no tengo como agradecértelo. También a mis compañeras de la maestría Ciresthel y Angy, gracias chicas!

A Salvador Muñoz Barrios, por su cariño, amor y comprensión. Muchísimas gracias por ser parte importante en mi vida y por la motivación que me brindaste y me sigues brindando.

A mi tutor el Dr. Donaciano Flores Robles, gracias por sus consejos y palabras.

DEDICATORIAS

Este trabajo está dedicado especialmente a mi FAMILIA y a Dios.

A mi madre la Sra. Lucia Hilario Muñoz, a mi padre el Sr. Alejandro Vega Hernández y mi hermana la Srita. María del Carmen Vega Hilario, gracias por sus consejos, enseñanzas, por su apoyo incondicional y por nunca dejarme caer en momentos de tristeza. Gracias por los ánimos que siempre eh recibo de ustedes, por permitirme compartir esta vida en su compañía, por ser mi pilar y mi motivación no sé qué haría sin ustedes. ESTE PEQUEÑO ESFUERZO ES POR USTEDES Y PARA USTEDES. LOS AMO.

A mi abuelita la Sra. Virginia Muñoz Alonso, Gracias por sus consejos sabios que me ha dado, por la motivación y el amor que siempre me ha brindado, usted es una persona muy sabia y un gran ejemplo de vida, Dios me la bendiga.

ÍNDICE	Págs.
RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	4
INTRODUCCIÓN.....	5
MATERIAL Y MÉTODOS.....	7
RESULTADOS.....	11
DISCUSIÓN	19
CONCLUSIONES.....	27
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
ANEXO 1.....	32
ANEXO 2.....	33
ANEXO 3.....	34

Resumen

La prehipertensión es una enfermedad compleja donde interaccionan factores genéticos y ambientales. El consumo excesivo de sodio es uno de los factores ambientales que altera la presión arterial. El canal epitelial de sodio (ENaC) localizado en el túbulo distal de los riñones, es importante para la regulación en la absorción de sodio a nivel renal y la regulación de la presión arterial. Algunos polimorfismos en los genes del ENaC, se han relacionado con la presión arterial en estudios poblacionales. El objetivo de este estudio, fue evaluar la asociación del consumo de sodio con polimorfismos en los genes del ENaC y la presión arterial alta en población joven guerrerense. **Metodología.** Se incluyeron 298 individuos, agrupados en casos y controles, los cuales firmaron una carta de consentimiento informado. La genotipificación se realizó por la técnica de PCR-RFLP's, los rs2228576 en el gen *SCNN1A*, rs1799979 en el gen *SCNN1B*, rs5718 y rs4073291 en el gen *SCNN1G*. Para evaluar el consumo anual de alimentos entre ellos sodio y potasio, se aplicó una encuesta, los datos fueron procesados en línea con el software Nutrimind 2012. **Resultados.** Los valores del consumo de sodio analizado por género, presentó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Los SNPs (rs2228576; rs5718 y rs4073291) en el canal epitelial de sodio, cumplen con el equilibrio de Hardy-Weinberg. Al analizar los datos, el porcentaje de hidratación con los genotipos del polimorfismo rs2228576 del gen ***SCNN1A***, se observó diferencias significativas ($p = 0.04$) y tendencia a la elevación en la variable de la PAS y colesterol total. En la comparación de la PAS con los portadores del genotipo G/G del SNP rs4073291 del gen ***SCNN1G***, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Además, se observa un incremento en el porcentaje de hidratación, los niveles de colesterol total y el peso. Para el SNP rs5718 del gen ***SCNN1G*** se observó diferencias significativas ($p = 0.005$) en los portadores del genotipo G/G con el porcentaje de hidratación. El haplotipo AT de los SNPs rs5718 y rs4073291 en el gen ***SCNN1G*** fue del 44%, con un desequilibrio de ligamiento de $D' = 0.575$. **Conclusión.** El consumo elevado de sodio se asocia con el alelo G del SNP rs4073291 en el gen *SCNN1G* y la presión arterial alta. De acuerdo con los

criterios de la OMS, el consumo de sodio es superior al recomendado en la población guerrerense.

Palabras clave:

ENaC, SNPs, Sodio, presión arterial.

Abstract

Prehypertension is a complex disease where genetic and environmental factors interact. Excessive consumption of sodium is one of the environmental factors that alters blood pressure. The sodium channel epithelial (ENaC) located in the distal tubule of the kidneys is important for regulation in the absorption of sodium at the renal level and regulation of blood pressure. Some polymorphisms in ENaC genes have been related to blood pressure in population studies. The objective of this study was to evaluate the association of sodium intake with polymorphisms in ENaC genes and high blood pressure in young Guerrero population. **Methodology.** We included 298 individuals, grouped into cases and controls, who signed an informed consent letter. Genotyping was performed by PCR-RFLP's, rs2228576 in the *SCNN1A* gene, rs1799979 in the *SCNN1B* gene, rs5718 and rs4073291 in the *SCNN1G* gene. To evaluate the annual consumption of food including sodium and potassium, a survey was applied, data were processed online with Nutrimind 2012 software. **Results.** The values of sodium consumption analyzed by gender showed statistically significant differences ($p < 0.05$). The SNPs (rs2228576; rs5718 and rs4073291) in the sodium epithelial channel, meet the Hardy-Weinberg equilibrium. When analyzing the data, the percentage of hydration with the polymorphism genotypes rs2228576 of the ***SCNN1A*** gene, significant differences ($p = 0.04$) and tendency to elevation in the variable of SBP and total cholesterol were observed. In the comparison of SBP with the G/G genotype of the SNP rs4073291 of the ***SCNN1G*** gene, statistically significant differences ($p < 0.05$) were observed. In addition, there is an increase in the percentage of hydration, total cholesterol levels and weight. For the rs5718 SNP of the ***SCNN1G*** gene, significant differences ($p = 0.005$) were observed in the G/G genotype carriers with the percentage of hydration. The AT haplotype of the SNPs rs5718 and rs4073291 in the ***SCNN1G*** gene was 44%, with a linkage disequilibrium of $D' = 0.575$. **Conclusion.** Elevated sodium intake is associated with the G allele of the SNP rs4073291 in the *SCNN1G* gene and high blood pressure. According to WHO criteria, sodium intake is higher than that recommended in the Guerrero population. **Keywords:** *ENaC, SNPs, Sodium, blood pressure.*

Introducción

La alta incidencia de casos de hipertensión dio la pauta para la introducción del concepto de prehipertensión por la *JNC-7*, esto con la finalidad de intentar evitar la progresión y desarrollo de la hipertensión (Chobanian *et al.*, 2003). La frecuencia de hipertensión en Latinoamérica es del 26-42% (Sánchez *et al.*, 2010), en México es del 30.8% (Barquera *et al.*, 2010) y en el estado de Guerrero es del 13.5% en mayores de 20 años, ubicándose por abajo de la media nacional (15.9%) ENSANUT 2012 (Olaiz *et al.*, 2006). Para el 2025, el número de adultos con hipertensión a nivel mundial será de 1.56 mil millones (Kearney *et al.*, 2005).

La presión arterial es regulada por el gasto cardiaco y la resistencia vascular periférica (Guyton & Hall., 2011), cuando existe una disfunción endotelial debida a una pérdida de factores relajantes como el óxido nítrico (NO), el factor hiperpolarizante del endotelio (EDHF) y factores vasoconstrictores como endotelinas, se puede presentar la hipertensión (Wagner-Grau., 2010). Ésta, es una enfermedad progresiva y compleja, donde interaccionan factores genéticos y ambientales (Doeai & Gholamalizadeh., 2014). El sodio es un elemento común utilizado en los alimentos como cloruro de sodio, con la finalidad de dar sabor a la mayoría de los alimentos (Felder *et al.*, 2013; Kotchen *et al.*, 2013), su excesivo consumo, se ha relacionado con el aumento de la presión sanguínea y las enfermedades cardiovasculares (Ardiles and Mezzano., 2010; Rodriguez., 2006; Sanada *et al.*, 2011; Zhao *et al.*, 2011). El sodio es un ion esencial (Kotchen *et al.*, 2013) importante para la osmolaridad y el volumen del líquido extracelular (Büsst., 2013). La hidratación corporal, permite el mantenimiento y regulación del líquido intracelular en el cual ocurren los procesos celulares; por tanto, el cuerpo se esfuerza en mantener el ambiente iónico estable. (Grandjean *et al.*, 2004; Lavizzo-Mourey *et al.*, 1988). En la deshidratación, las células se adaptan a la presión osmótica externa, a través de la acumulación de iones inorgánicos de bajo peso molecular como el sodio (Häussinger., 1996). En dicho proceso, se ve implicado el canal epitelial de sodio (ENaC), el cual se encarga de la reabsorción de agua y sodio en el túbulo distal de las nefronas (riñón), en el colon y pulmones (Bhalla and

Hallows., 2008; Butterworth., 2010; Doaei and Gholamalizadeh., 2014; Loffing and Korbmacher., 2009). El ENaC es selectivo para Na⁺ y Li⁺, está constituido por cuatro subunidades (2 α , β , γ), cada subunidad tiene dos segmentos de extensión transmembrana (M1 y M2), con dominios amino (NH₂) y carboxilo (COOH) intracelulares, dejando un gran lazo hidrofílico extracelular, el canal es regulado por aldosterona e inhibido por amilorida (Kellenberger *et al.*, 1999; Soundararajan *et al.*, 2010; Warnock *et al.*, 2014). Cada subunidad, tiene un papel importante en su regulación, apertura, densidad y conducción de sodio (Staub *et al.*, 2000; Zhou *et al.*, 2007). El gen *SCNN1A*, está localizado en el locus 12p13 codifica para la subunidad α (alfa 1), los genes *SCNN1B* y *SCNN1G*, se localizan en el locus 16p12 y codifican para las subunidades β (beta 1) y γ (gamma 1) (Büsst., 2013, Yang *et al.*, 2014). Se han relacionado algunos desórdenes de la presión arterial con polimorfismos en los genes que codifican para las subunidades del ENaC (Sanada, Jones & Jose., 2011). El objetivo de este estudio fue evaluar la relación del consumo de sodio con los SNPs rs2228576, rs1799979, rs5718, rs4073291 de las subunidades alfa, beta y gamma del canal epitelial de sodio con la presión arterial alta.

Material y métodos

Sujetos de estudio y evaluación clínica

La sede del estudio fue el Laboratorio de Investigación en Obesidad y Diabetes (FCQB-UAG), en el mismo se incluyeron 298 individuos de 19-22 años, originarios del Estado de Guerrero, los cuales se agruparon en 95 prehipertensos (120-139/80-89 mm/Hg) y 203 normotensos (<120/80 mm/Hg), de acuerdo a los criterios de la *JNC 7 (Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure)*, se les determinó el peso (kg), índice de masa corporal (IMC) y el porcentaje de hidratación, con el analizador de la composición corporal MC 780 U (TANITA), la talla con un estadímetro portátil (Seca 240, Hamburgo, Alemania) y la presión arterial con el esfigmomanómetro digital (HEM-712C, Omron). Mediante una encuesta, se determinó el consumo anual de alimentos, de sodio y de potasio, los datos fueron procesados en línea con el software Nutrimind 2012 (anexo 1). Los participantes firmaron un consentimiento informado (anexo 2).

Mediciones bioquímicas

Se determinó glucosa, colesterol, triglicéridos, con kits (Spinreact), utilizando el aparato automatizado Mindray B-200.

Genotipificación de los polimorfismos

Se obtuvo ADN de leucocitos de sangre periférica, mediante la técnica de Miller modificada (Miller *et al.*, 1988). Por la técnica de PCR-RFLPs, se identificaron los polimorfismos: rs2228576 del gen *SCNN1A*, rs1799979 del gen *SCNN1B* y rs5718, rs4073291 del gen *SCNN1G* en el canal epitelial de sodio.

Condiciones de PCR y RFLP para el SNP rs2228576 del gen *SCNN1A*.

La mezcla de reacción se realizó en un volumen final de 10 µl, en donde se le adicionó 1.0 mM de cada iniciador (sentido 5'-ATC TCC AGG GGG CTC TGC AG y anti sentido 5'-CCT GCA CAT CCT TCA ATC TTG), 0.2 mM de dNTP's, 1.5 mM MgCl₂, 0.1 U de Taq DNA polimerasa y 1X de buffer de PCR (Invitrogen, Waltham,

MA, USA) y 100 ng de ADN. La amplificación se realizó en un termociclador (Veriti 96-WellApplied Biosystems, Carlsbad, CA USA), bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial 94°C 5 min, 30 ciclos de (95°C /30 s, 57°C /30 s, 72°C /30 s) y extensión final a 72°C 3 min, obteniendo un producto de 143 pb. Los productos de PCR se sometieron a restricción con la enzima *Acl* (New England Biolabs, Beverly, MA, USA) por 3 hrs a 37°C, generando un patrón de restricción para el genotipo G/G, 110, 33 pb; G/A, 143, 110 y 33 pb y 143 pb para A/A. El patrón de restricción se visualizó en geles de poliacrilamida al 6% teñido con nitrato de plata.

Condiciones de PCR y RFLP para el SNP rs1799979 del gen *SCNN1B*.

La mezcla de reacción se realizó en un volumen final de 10 µl, en donde se le adicionó 1.0 mM de cada iniciador (sentido fue 5'-TGC CTC ATC GAG TTT GGGGAG y el anti sentido 5'-GAC GCA GGG GTC ATA GTT GG), 0.2 mM de dNTP's, 1.5 mM MgCl₂, 0.1 U de Taq DNA polimerasa y 1X de buffer de PCR (Invitrogen, Waltham, MA, USA) y 100 ng de ADN. La amplificación se realizó en termociclador (Veriti 96-WellApplied Biosystems, Carlsbad, CA USA), bajo las siguientes condiciones, desnaturalización inicial 94°C 5 min, 30 ciclos de (95°C /30 s, 57°C /30 s, 72°C /30 s) y extensión final a 72°C 3 min, obteniendo un producto de 267 pb. Los productos de PCR se sometieron a restricción con la enzima *Nla*II (New England Biolabs, Beverly, MA, USA) a 37°C por 3 hrs, generando un patrón de restricción para el genotipo C/C, 267 pb; C/T, 267, 173 y 94 pb y 173 y 94 pb para T/T. El patrón de restricción, se visualizó en geles de poliacrilamida al 6% teñido con nitrato de plata.

Condiciones de PCR y RFLP para el SNP rs4073291 y rs5718 del gen *SCNN1G*.

Para el polimorfismo rs4073291 el iniciador sentido fue 5'-AGG AGG CTT CCA AGC TTA TGA TG y el anti sentido 5'-TAG CAT CAT TTT GAT GGT GTT C. La mezcla de reacción se realizó en un volumen final de 10 µl, adicionando 1.0 mM de cada iniciador, 0.2 mM de dNTP's, 1.5 mM MgCl₂, 0.1 U de Taq DNA polimerasa, buffer de PCR 1X (Invitrogen, Waltham, MA, USA) y 100 ng de ADN. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador (Veriti 96-WellApplied Biosystems, Carlsbad, CA USA), con las siguientes condiciones: desnaturalización inicial 94°C 5 min, 30 ciclos

de (95°C /30 s, 57°C /30 s, 72°C /30 s) y extensión final a 72°C 3 min, obteniendo un producto de 165 pb. Los productos de PCR se sometieron a digestión con la enzima *Bfal* (New England Biolabs, Beverly, MA, USA) a 37°C por 3 hrs, generando un patrón de restricción para el genotipo T/T, 139, 23 y 3 pb, G/T, 165, 139, 23 y 3 pb y 165 pb para G/G. La detección del patrón de restricción generado se visualizó en geles de poliacrilamida al 6% teñido con nitrato de plata.

Para el polimorfismo rs5718, el iniciador sentido fue 5'-ACT GCG CGG TGG CCC AGG A y el anti sentido 5'-CCA CCT GCC CAG GTG CTT TC. La mezcla de reacción se realizó en un volumen final de 10 µl, adicionando 1.0 mM de cada iniciador, 0.2 mM de dNTP's, 1.5 mM MgCl₂, 0.1 U de Taq DNA polimerasa, buffer de PCR 1X (Invitrogen, Waltham, MA, USA) y 200 ng de ADN. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador (Veriti 96-Well Applied Biosystems, Carlsbad, CA USA), con las siguientes condiciones: desnaturalización inicial 94°C 5 min, 35 ciclos de (94°C /1 min, 66°C /1 min, 72°C /1 min) y extensión final a 72°C 5 min, obteniendo un producto de 144 pb. Los productos de PCR se sometieron a digestión con la enzima *BbsI* (New England Biolabs, Beverly, MA, USA) a 37°C por 3 hrs, generando un patrón de restricción para el genotipo A/A, 144 pb; A/G, 144, 119 pb y 119 y 25 pb para G/G. La detección del patrón de restricción generado se visualizó en geles de poliacrilamida al 6% teñido con nitrato de plata.

Análisis estadístico

Para las variables cuantitativas simétricas se obtuvieron medias y desviaciones estándar, la comparación entre grupos se realizó con la prueba t de Student. En las variables cuantitativas no simétricas, se obtuvieron medianas y rangos intercuartiles, la comparación entre grupos se realizó con la prueba de Mann Whitney; se obtuvieron las frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas y la comparación entre grupos se realizó mediante la prueba estadística de Ji cuadrada (χ^2). Se determinaron las frecuencias genotípicas y alélicas de los SNP's por conteo directo y se calculó el equilibrio de Hardy-Weinberg. Se realizaron modelos de regresión lineal y logística para determinar la interacción del consumo de sodio con los SNP's y la presión arterial alta. Se consideró un valor $p < 0.05$ como

estadísticamente significativo. Se calculó la frecuencia de los haplotipos y el desequilibrio de ligamiento (DL), con el software SHEsis en línea.

Resultados

En el presente estudio se incluyó un total de 298 individuos estratificados en casos y controles. De los parámetros clínicos, bioquímicos y nutricionales, determinados en los grupos de estudio en población guerrerense, el género, peso, talla, IMC, glucosa, colesterol y la presión arterial sistólica, diastólica, tuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$). Tabla 1.

Tabla 1. Características clínicas, bioquímicas de la población guerrerense.

Variables	Casos n=95	Controles n=203	p
Edad ^a	21 (19-22)	20 (19-22)	0.33
Género			
Mujer	25 (26)	144 (71)	<0.001**
Hombre	70 (74)	59 (29)	
Peso (kg) ^a	65.9 (56-74.1)	55.5 (50.4-60.4)	<0.001**
Talla (cm) ^a	162.5 (157-170.6)	155.5 (175-163)	<0.001**
IMC (kg/m ²) ^a	24.7 (21.3-26.6)	21.7 (20.4-23.4)	<0.001**
Glucosa (mg/dL) ^a	85 (78-94)	84 (76-90)	0.01
Colesterol total (mg/dL) ^a	157 (132-180)	121 (75-168)	<0.001**
Triglicéridos (mg/dL) ^a	103 (74-141)	122 (83-154)	0.08
PAS (mmHg) ^a	127 (123-131)	104 (99-109)	<0.001**
PAD (mmHg) ^b	78 ±9.5	66.3 ±7.8	<0.001**

IMC índice de masa corporal; PAS presión arterial sistólica; PAD presión arterial diastólica. ^a Datos proporcionados en medianas (percentil 25-75), *Prueba de Wilcoxon. ^b Datos proporcionados en medias y DE; **Prueba t-Student.

Se determinó el consumo de sodio, potasio y el porcentaje de hidratación, en la población estudiada.

El consumo de sodio en los hombres fue de 3.3 g. Al analizar por género entre casos y controles, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.01$) en el consumo de sodio. Mientras que para el porcentaje de hidratación, solo en los hombres, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.001$), siendo del grupo control los que tuvieron un mayor porcentaje de hidratación. Tabla 2.

Tabla 2. Promedio de sodio, potasio y porcentaje de hidratación de la población.

	Mujer		Hombre	
	Caso	Control	Caso	Control
Consumo de Sodio (g) ^a	1.5 (1.0-2.1)	2.2 (1.4-3.5)	1.8 (1.4-2.5)	3.3 (2.0-4.2)
	p= 0.007**		p <0.01**	
Consumo de Potasio (g) ^a	2.4 (1.5-3.4)	2.4 (1.9-3.2)	2.4 (1.8-3.3)	3.0 (2.0-3.1)
	p= 0.70		p=0.56	
Hidratación (%) ^a	54.5 (51-58.2)	54.5 (51.8-58.1)	58.2 (55-61.2)	62.4 (57.6-64.5)
	p=0.95		p=0.001**	

^a Datos proporcionados en medianas (percentil 25-75); prueba de Wilcoxon. Datos del promedio de ingesta de consumo diario, en gramos. ** p<0.05

Frecuencias genotípicas y alélicas

La frecuencia de genotipos para el polimorfismo rs2228576 del gen *SCNN1A*, fueron para el homocigoto G/G del 35%, para el G/A del 52% y 13% para el homocigoto A/A, el alelo más frecuente fue G con un 61%. En el análisis de las frecuencias genotípicas y alélicas entre los grupos de estudio, no se observan diferencias ($p>0.05$). Tabla 3.

Para el polimorfismo rs1799979 del gen *SCNN1B*, se observó al genotipo C/C en un 100%, así como al alelo C con un 100%. Tabla 3.

Para el polimorfismo rs5718 del gen *SCNN1G*, fue del 75% para el homocigoto A/A, 24% para el heterocigoto G/A y 1% para el homocigoto G/G, el alelo más frecuente fue el A con un 87%. En el análisis de las frecuencias genotípicas y alélicas, no se observan diferencias significativas ($p>0.05$). Tabla 3.

Para el polimorfismo rs4073291 del gen *SCNN1G*, fueron del 30% para el homocigoto T/T, el 56% para el heterocigoto T/G y el 14% para el homocigoto G/G, el alelo más frecuente fue el T con un 58%, En el análisis de las frecuencias genotípicas y alélicas entre los grupos de estudio, se observaron diferencias significativas ($p<0.05$) con la presión arterial sistólica elevada. Las personas portadoras del alelo G y del genotipo G/G, tienen un OR= 1.7 IC_{95%} (1.2 - 2.4); y 3.4 IC_{95%} (1.5 - 7.7), respectivamente, ambos presentan un aumento en su presión arterial. Tabla 3.

Con excepción del polimorfismo rs1799979 en el gen *SCNN1B*, todos los SNPs cumplen con el equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 3. Distribución de las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos rs2228576 del gen *SCNN1A*, rs1799979 del gen *SCNN1B* y rs5718, rs4073291 del gen *SCNN1G* del canal epitelial de sodio (*ENaC*), en la población del Estado de Guerrero.

Gen	Casos n=95 (%)	Controles n=203 (%)	OR	IC _{95%}	p
<i>SCNN1A</i> G>A					
Genotipo					
G/G	30 (32)	63 (35)		1	
G/A	40 (43)	94 (52)	0.9	(0.49-1.60)	0.7*
A/A	23 (25)	23 (13)	2.1	(0.96-4.60)	0.04*
Alelo					
G	100 (54)	220 (61)			
A	86 (46)	140 (39)	1.35	(0.93-1.96)	0.09*
<i>SCNN1B</i> C>T					
Genotipo					
C/C	94 (99)	200 (100)			
C/T	1 (1)	0 (0)			0.32**
T/T	0 (0)	0 (0)			
Alelo					
C	189 (99)	402 (100)	-	-	0.96*
T	1 (1)	0 (0)			
<i>SCNN1G</i> G>A					
Genotipo					
G/G	4 (5)	2 (1)		1	
G/A	21 (25)	37 (24)	0.28	(0.02-2.22)	0.15**
A/A	60 (70)	118 (75)	0.25	(0.02-1.85)	0.09*
Alelo					
G	29 (17)	41 (13)		1	
A	141 (83)	273 (87)	0.73	(0.42-1.27)	0.23*
<i>SCNN1G</i> T>G					
Genotipo					
T/T	17 (18)	60 (30)		1	
T/G	50 (53)	112 (56)	1.58	(0.81-3.17)	0.15*
G/G	28 (29)	29 (14)	3.41	(1.51-7.73)	0.001*
Alelo					
T	84 (44)	232 (58)			
G	106 (56)	170 (42)	1.7	(1.20-2.48)	0.002*

Los datos mostrados son % de frecuencias obtenidos por conteo directo, valor de p por prueba de X² (*) y exacta de Fisher (**). IC_{95%}, índice de confianza del 95%.

En la comparación entre los parámetros clínicos, bioquímicos con los genotipos del polimorfismo rs2228576 del gen *SCNN1A*. En las variables de género y el porcentaje de hidratación, se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$). Además, se observa una tendencia a la elevación de los niveles en las variables de colesterol total y presión arterial sistólica, en los portadores del genotipo A/A. Tabla 4.

Tabla 4. Comparación de los parámetros clínicos, bioquímicos con los genotipos del polimorfismo rs2228576 del gen *SCNN1A*, en la subunidad alfa en el canal epitelial de sodio.

Variables	Genotipos			p
	G/G	G/A	A/A	
Género*				
Femenino	62 (41)	69 (45)	21 (14)	0.01
Masculino	31 (25)	65 (53)	26 (21)	
Peso (kg)**	58.3 (52.3-64.9)	57.2 (51.1-65.7)	59.6 (52.3-65.6)	0.75
Talla (cm)**	159 (153-166.5)	158 (142.5-166.5)	159 (149-164.3)	0.16
IMC (kg/m ²)**	22.5 (20.8-24.5)	22 (20.4-24)	23 (20.8-24.7)	0.46
Glucosa (mg/dL)**	85 (79-91)	84.5 (77-92)	85 (78-91)	0.93
Colesterol total(mg/dL)**	138 (81-176)	140.5 (90-180)	152 (107-171)	0.80
Triglicéridos (mg/dL)**	119 (79-155)	111 (76-146)	108 (80-144)	0.73
PAS (mmHg)**	107 (102-122)	111 (103-122)	119 (103-127)	0.13
PAD (mmHg)**	70 (64-76)	69 (63-76)	70 (64-78)	0.65
Hidratación (%) **	55.3 (51.8-59.1)	57.1 (53.3-61.2)	57.5 (52.7-61)	0.04

* Datos proporcionados por n y percentiles. Prueba de X^2 . **Datos proporcionados en medianas y percentil 25 y 75. Prueba de Kruskal-Wallis. IMC (índice de masa corporal), PAS (presión arterial sistólica), PAD (presión arterial diastólica).

En la comparación de los genotipos del polimorfismo rs1799979 en el gen *SCNN1B*, con los parámetros clínicos y bioquímicos de la población, no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) (*datos no mostrados*).

En el análisis de los parámetros clínicos y bioquímicos con los genotipos del polimorfismo rs5718 del gen *SCNN1G*, en el porcentaje de hidratación se observaron diferencias significativas ($p = 0.005$); donde los portadores del genotipo G/G tienen un porcentaje mayor de hidratación. Además, se observan valores incrementados en las variables de peso, talla, triglicéridos y PAS. Tabla 5.

Tabla 5. Comparación de los parámetros clínicos, bioquímicos con los genotipos del polimorfismo rs5718 del gen *SCNN1G* de la subunidad gamma en canal epitelial de sodio (ENaC).

Variables	Genotipos			p
	G/G	G/A	A/A	
Género*				
Femenino	1 (1)	33 (23)	107 (76)	0.10
Masculino	5 (5)	25 (24)	72 (71)	
Peso (kg) **	63.4 (58.8-65.9)	59.9 (53.2-68.9)	56.8 (51-62.2)	0.08
Talla (cm) **	167 (160-170)	160.3 (152-170)	159 (152-165.5)	0.13
IMC (kg/m ²) **	22.35 (20.9-24.3)	22.5 (21.2-24.6)	22.4 (20.6-24.1)	0.74
Glucosa (mg/dL) **	82 (74-91)	84 (76-90)	86 (79-93)	0.17
Colesterol total (mg/dL)**	150 (141-255)	137 (79-175)	151 (111-181)	0.20
Triglicéridos (mg/dL) **	146.5 (120-176)	106 (66-141)	103 (76-147)	0.38
PAS (mmHg) **	122 (119-125)	111.5 (103-123)	110 (102-123)	0.38
PAD (mmHg) **	64 (61-78)	69 (65-77)	71 (64-77)	0.79
Hidratación (%)**	62.4 (60.1-63.9)	55 (51.8-58.4)	56 (52.7-60.7)	0.005

* Datos proporcionados por n y percentiles. Prueba de X². **Datos proporcionados en medianas y percentil 25 y 75. Prueba de Kruskal-Wallis. IMC (índice de masa corporal), PAS (presión arterial sistólica), PAD (presión arterial diastólica).

En el análisis de los parámetros clínicos y bioquímicos con los genotipos del polimorfismo rs4073291 del gen *SCNN1G*, se observan diferencias significativas (p=0.03) en la PAS, donde los portadores del genotipo G/G tienen una PAS mayor. Se observa también una tendencia a la elevación de las variables de peso, colesterol total y el porcentaje de hidratación. Tabla 6.

Tabla 6. Comparación de los genotipos del polimorfismo rs4073291 del gen *SCNN1G* del canal epitelial de sodio (ENaC) y los parámetros clínicos, bioquímicos.

Variables	Genotipos			p
	T/T	T/G	G/G	
Género*				
Femenino	48 (28)	96 (57)	25 (15)	
Masculino	30 (23)	66 (52)	32 (25)	0.08
Peso (kg)**	55.9 (51.5-61.6)	58.1 (53.1-65.3)	58.7 (50.7-67.4)	0.45
Talla (cm) **	157 (146-164)	159 (147-166.5)	158.5(152-167)	0.35
IMC (kg/m ²) **	22.05 (20.7-23.8)	22.55 (20.6-24.2)	22 (20.5-24.7)	0.78
Glucosa (mg/dL)**	83.5 (76-91)	85 (78-91)	84 (78-90)	0.56
Colesterol total (mg/dL)**	127.5 (79-166)	141 (79-173)	143 (111-189)	0.11
Triglicéridos (mg/dL)**	122.5 (78-149)	112.5 (80-153)	118 (82-162)	0.72
PAS (mmHg)**	106.5 (101-117)	109 (102-122)	119 (104-126)	0.03
PAD (mmHg)**	69 (64-76)	69 (63-76)	71 (65-78)	0.57
Hidratación (%)**	55.85 (53.1-60.7)	56.15 (52.2-60.8)	57.8 (54.9-60.8)	0.33

*Datos proporcionados por n y percentiles. Prueba de X². **Datos proporcionados en medianas y percentil 25 y 75. Prueba de Kruskal-Wallis. IMC (índice de masa corporal), PAS (presión arterial sistólica), PAD (presión arterial diastólica).

Para evaluar el efecto de los genotipos de los polimorfismos estudiados con el consumo de sodio, se hizo un modelo de regresión logística. El modelo se ajustó por edad, género, IMC y el consumo de potasio. Sólo para el SNP rs4073291 del gen *SCNN1G*, el genotipo G/G refirió un OR de 5.06, (IC_{95%} 1.7 - 14.5; p =0.003).

Tabla 7.

Tabla 7. Relación de los polimorfismos rs2228576 del gen *SCNN1A* y rs5718, rs4073291 del gen *SCNN1G* del canal epitelial de sodio (ENaC), con el consumo de sodio.

Polimorfismo	Genotipo	OR	IC _{95%}	p
SCNN1A G>A	G/G	1.00		
	G/A	0.62	0.26-1.43	0.26
	A/A	1.74	0.65-4.62	0.26
SCNN1G T>G	T/T	1.00		
	T/G	1.97	0.82-4.71	0.13
	G/G	5.06	1.76-14.57	0.003
SCNN1G G>A	G/G	1.00		
	G/A	0.33	0.04-3.02	0.33
	A/A	0.42	0.05-3.47	0.42

Modelo de regresión logística, ajustado por el consumo por la edad, género, IMC y consumo de potasio.

Se realizó un modelo de regresión logística, para evaluar el efecto de los genotipos. El polimorfismo que nos refirió riesgo fue el rs4073291 del gen *SCNN1G*, con el consumo de sodio elevado (>2 g). Los individuos que consumen más de 2 g de sodio y son portadores del genotipo G/G, tienen tres veces mayor riesgo de que aumente su presión arterial. Tabla 8.

Tabla 8. Modelo de interacción del consumo de sodio y los genotipos del polimorfismo T>G (rs4073291) del gen *SCNN1G* del canal epitelial de sodio (ENaC).

Genotipo	OR	IC _{95%}	p
T/T	1.00	Referencia	-
T/G	1.48	0.78 - 2.84	0.229
G/G	3.08	1.42 - 6.70	0.004

Modelo de regresión logística, ajustado por consumo de sodio.

Haplotipos

De los polimorfismos rs5718 y rs4073291 en el gen *SCNN1G*, de la subunidad gamma del canal epitelial de sodio, se infirieron las frecuencias de los haplotipos mediante el software SHEsis (en línea), estratificando a la población estudiada en casos y controles. Se observa una frecuencia del 43.4% para el haplotipo AG, mientras que para el haplotipo GG la frecuencia es del 2.3%. Cuando se analizan las frecuencias inferidas entre los grupos de estudio, en el haplotipo AG y AT, se observan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con ORs de 1.47 (IC_{95%} 1.01 - 2.13) y 0.65 (IC_{95%} 0.44 - 0.95), respectivamente. Tabla 9.

Tabla 9. Distribución de las frecuencias de haplotipos a partir de los polimorfismos rs 5718 y rs 4073291 del gen *SCNN1G* en la población del Estado de Guerrero.

Haplotipos		Casos	Controles	OR IC _{95%}	p
rs 5718	rs 4073291	n= 95	n=203		
A	G	0.521	0.434	1.47 (1.01-2.13)	0.042
A	T	0.336	0.442	0.65 (0.44-0.95)	0.02
G	T	0.109	0.101	1.01 (0.61-1.98)	0.10
G	G	0.034	0.023	-	-

Así también, se determinó el desequilibrio de ligamiento (DL) entre los SNPs rs5718 y rs4073291, en el gen *SCNN1G* de la subunidad gamma en el canal epitelial de sodio, $D' = 0.575$.

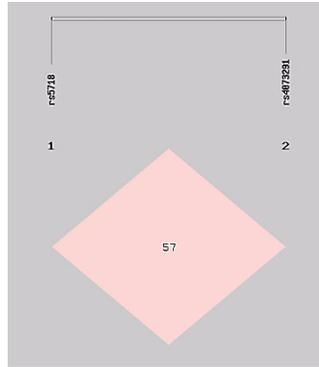


Figura 1. Desequilibrio de ligamiento para los dos SNPs rs5718 y rs4073291 del gen *SCNN1G*. Programa SHEsis, versión win 32. (Valores de DL: D' < 0.33 bajo, D' 0.33-0.5 moderado y D' > 0.5 - 1.0 alto).

Discusión

La prehipertensión es una etapa previa al desarrollo de la hipertensión, entre el 80-95% de los casos son reportados con hipertensión, donde los factores genéticos y ambientales están implicados. (Busst., 2013). El sodio se ha considerado como el principal catión extracelular y un factor ambiental implicado en la alteración de la presión arterial (Adrogué and Madias., 2007; Doaei and Gholamalizadeh., 2014). Su consumo elevado, incrementa el riesgo cardiovascular (Hironobu *et al.*, 2011), provoca enfermedades renales, resistencia a la terapia anti hipertensión y algunas complicaciones secundarias de la enfermedad (Sanada *et al.*, 2011).

En el presente trabajo, se observaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros clínicos, bioquímicos entre los casos y controles, en las variables de género, peso, talla, IMC, glucosa, colesterol total, presión arterial sistólica y diastólica. En cuanto a la diferencias de presión arterial, tanto sistólica como diastólica, éstos fueron parámetros que se consideraron para participar en el estudio, además del IMC y la edad. En la variable de género, el 74% de los casos son hombres. Con relación a la prevalencia de hipertensión, las mujeres en etapa adulta temprana suelen tener niveles de presión arterial sistólica más bajos que los hombres y por consecuencia, los casos de hipertensión son menos comunes en mujeres jóvenes, sin embargo esta incidencia disminuye después de la sexta década de vida, durante la menopausia (Oparil and Miller., 2005), debido a que a las hormonas sexuales se les ha atribuido protección contra la hipertensión, en mujeres de edad joven y durante la menopausia se ven alteradas. (Lomelí, Catalina, *et al.*, 2008).

Las variables de peso, talla e IMC, se encontraron elevados en individuos con presión arterial alta, cabe mencionar que el IMC, se obtiene dividiendo el peso entre la talla al cuadrado. Dichos parámetros están íntimamente relacionados con la presión arterial, el aumento de peso parece ser un factor de riesgo importante para la elevación de la presión arterial (Landsberg *et al.*, 2013). Esto se debe a que a mayor masa muscular y/o masa grasa, habrá un mayor bombeo de sangre para permitir la irrigación adecuada a todos los órganos y como consecuencia la presión

arterial aumenta. Estudios en personas hipertensas, han demostrado que con una pérdida de peso modesta, los niveles de presión arterial disminuyen. Sin embargo, los mecanismos moleculares específicos no están descritos completamente. (Mertens and van Gaal., 2000).

Los parámetros de glucosa y colesterol, se encontraron incrementados en los casos, se ha observado que la insulina además de sus efectos relacionados con el ingreso de glucosa a las células musculares, adiposas y cardíacas, se le ha atribuido efectos vasodilatadores mediados por la estimulación de la liberación del óxido nítrico (NO). En las anomalías relacionadas a la secreción de insulina, la liberación de NO podría contribuir a la función vascular alterada y al desarrollo de la hipertensión en estados resistentes a la insulina. (Scherrer *et al.*, 1994). La disfunción en la vasodilatación, contribuye al aumento de la presión arterial y a alteraciones cardiovasculares (Saad *et al.*, 2004; Zhou *et al.*, 2012). En el caso del colesterol elevado, se sabe que a mayor concentración existe una mayor tendencia a la formación de la placa arteriosclerótica, resultando en un estrechamiento y endurecimiento de las arterias y con ello el aumento de la presión, pudiendo ser esta una de las causas a largo plazo del desarrollo y progresión de la hipertensión. (Rahmouni *et al.*, 2005).

En el análisis del consumo de sodio, potasio y el porcentaje de hidratación en la población de estudio, se encontró que el consumo medio de sodio en mujeres es 2.2 g y en los hombres es de 3.3 g, esto probablemente se debe a que anatómicamente existen diferencias; la densidad de las papilas fungiformes y las células de las papilas gustativas es mayor en mujeres, lo que provoca que tengan una mayor percepción al gusto (Bartoshuk *et al.*, 1994) y al ser más perceptibles al sabor salado, su preferencia se ve disminuida y el umbral del sabor salado es menor (Noh *et al.*, 2013). También, se ha observado que los hábitos alimenticios, la actividad física, etc., ha hecho que los hombres consuman una mayor cantidad de sodio. (Ortega *et al.*, 2011). De acuerdo a lo recomendado por la OMS en el 2013, la ingesta diaria mínima de potasio debe de ser de 3.5 g/dl, sin embargo en ambos grupos de la población de estudio se encontró que se ingieren porciones bajas de este mineral. El consumo de grandes cantidades de comidas rápidas, chatarra y

pequeñas porciones de vegetales y frutas, han hecho que sean un factor atribuible para el desarrollo de la hipertensión. (Zehnder., 2010). En pacientes hipertensos, el consumo de frutas y vegetales, mejora la disfunción endotelial y cardiovascular (McCall *et al.*, 2009). A nivel celular, la restricción de potasio hace que el sodio del fluido extracelular se retenga en la célula, para mantener su tonicidad y volumen, esto con la finalidad de que la concentración de sodio intracelular sea mayor en una proporción 2:3, es decir de 30-70 mEq/L. Cuando existe un déficit, la relación presión-natriurésis y la despolarización de la membrana celular, se ven alteradas. (Zárate and Valenzuela., 2012). La media del porcentaje de hidratación en la población de estudio, fue mayor en hombres (60.3%) que en mujeres (54.5%). De acuerdo al Comité de Alimentos y Nutrición del 2005 (por sus siglas en inglés *FNB*), el promedio de hidratación para un adulto hombre de 19 a 50 años es de 59% (43-73%) y en mujeres del 50% (41-60%). La cantidad de agua en el cuerpo varía con la edad, el sexo, la masa muscular y el tejido adiposo (Grandjean *et al.*, 2004). Las mujeres suelen tener un porcentaje de agua corporal menor que los hombres, debido a que poseen una proporción de grasa relativamente más alta, equivalente a un 10-40% del peso corporal y a mayor tejido adiposo, el porcentaje de hidratación es menor. (Laaksonen *et al.*, 2003).

Se evaluaron 4 polimorfismos localizados en los genes que codifican para cada una de las subunidades que conforman el canal epitelial de sodio. En cuanto a la subunidad alfa, el SNP rs2228576 del gen *SCNN1A*, ubicado en el exón 13, que se traduce a nivel de proteína en un cambio de una treonina por alanina, en el extremo carboxi-terminal (Azad *et al.*, 2009; Bhalla and Hallows., 2008; Pratt., 2005). Se menciona que al ocurrir este cambio, se pierde uno de los tres sitios posibles de fosforilación (Serina 342, Serina 428 y Treonina 428) para la proteína cinasa (Sgk1), importante para la regulación del tráfico intracelular del sodio (Lee *et al.*, 2008). En relación a la distribución genotípica y alélica de dicho polimorfismo, se encontró que el alelo G fue el de mayor frecuencia con el 61%. Estos datos, concuerdan con un estudio realizado por Xu *et al.*, 2009 en una etnia de Kazak china, en donde reportaron una mayor frecuencia del alelo G con el 59.47%, donde no se relacionó con hipertensión. En el análisis de la correlación entre los genotipos del

polimorfismo rs2228576 del gen *SCNN1A* con los parámetros clínicos y bioquímicos, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en el porcentaje de hidratación. Los portadores del genotipo A/A tuvieron un porcentaje de hidratación mayor en comparación del genotipo G/G, el alelo A a nivel de aminoácido se traduce en Alanina y el alelo G en el aminoácido Treonina, sitio importante de fosforilación. A nivel funcional la subunidad alfa del canal se le ha atribuido la regulación del volumen del líquido corporal, la formación del poro y la permeabilidad de los iones (Sun *et al.*, 2011). Dichos procesos, los lleva a cabo mediante la reabsorción de sodio, lo que induce al aumento de la presión osmótica del fluido intersticial (Marunaka., 2014). De acuerdo a la publicado por Bankir *et al.*, 2010, la actividad del canal está regulado por aldosterona, vasopresina y los agonistas del receptor de vasopresina 2, lo que incrementa la reabsorción de sodio y estimula la permeabilidad del agua por medio de la acuaporina 2. Teniendo en cuenta, que los portadores del genotipo A/A, tengan una mayor actividad del canal por el cambio de un sitio de fosforilación, posiblemente también se vea alterado la absorción de sodio y agua, lo que resulta en un porcentaje de hidratación mayor.

Para el SNP rs1799979 del gen *SCNN1B* ubicado en el exón 12, traducido a nivel de proteína en un cambio de treonina (ACG) por metionina (ATG) en la posición 594 en la región carboxi-terminal de la subunidad β . Algunos estudios mencionan que los residuos de treonina y serina en los extremos carboxi-terminal de la subunidad beta son sitios consenso de fosforilación para la regulación del canal. Por lo tanto, cuando ocurre el cambio de treonina por metionina, la modulación en la regulación de la actividad del canal por las proteínas PKC y PKA se ven afectados (Cui *et al.*, 1997; Shimkets *et al.*, 1998). En el análisis de las frecuencias genotípicas y alélicas, se encontró que la frecuencia del genotipo C/C y del alelo C fue del 100% en la población control. Cabe resaltar, que dicho polimorfismo no se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg, lo que nos indica que es monomórfico, es decir que el alelo C se encuentra en la mayoría de la población de estudio. Sin embargo, se encontró un paciente con el genotipo C/T y con una presión de 144/81 mm Hg, lo que nos hace suponer que el alelo T si tiene algún efecto en la regulación de la presión arterial, tal como lo publicó Dong *et al.*, 2001, en un estudio realizado en 459

personas de 40-59 años de edad, de origen africano, donde reportaron una frecuencia del alelo C del 97.6% y el alelo T con un 2.4%, el alelo T se relacionó con el incremento de la presión arterial. También, coincide con lo publicado por Gupta *et al.*, 2014 en un estudio de 300 personas de 25-60 años, con Ancestría Indo-Aria del norte de la India, estratificadas de acuerdo a su presión arterial (<120/80 mm Hg) los controles y ($\geq 140/\geq 90$ mm Hg) los casos, también encontraron la frecuencia del alelo C en forma absoluta.

Para la subunidad Y se estudiaron dos polimorfismos el rs5718 y el rs4073291 ubicados uno en la región -173 del promotor y en el intrón 1 respectivamente del gen *SCNN1G*. Algunos estudios mencionan que tanto la subunidad beta como gamma, son esenciales en la translocación del complejo del canal en la membrana plasmática, sin embargo la subunidad gamma tiene un papel más importante en el montaje y el tráfico del complejo en la superficie celular (Konstas and Korbmacher., 2003). En la determinación de las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo rs5718, donde el genotipo A/A fue el más frecuente (75%) y el alelo A con el 86%, éstos resultados concuerdan con el estudio publicado por Iwai *et al.*, 2001 en una cohorte de 14,200 personas hombres y mujeres Japoneses de 30-79 años en donde los pacientes fueron estratificados por edad en un rango de 10 años y género; se reportó la asociación con el genotipo A/A con una disminución de 11 mmHg en la presión sistólica y en el pulso, con alta prevalencia de hipotensión. Posteriormente, se realizó el ensayo de transfección utilizando células del epitelio de riñón canino *Madin-Darby* (MDCK) para ver la funcionalidad del promotor en presencia o ausencia de los alelos A y G. La actividad del promotor fue mayor con el alelo G. Sin embargo, ellos observaron que la variación del alelo A, disminuía la actividad del promotor y tenía efectos significativos en la disminución de la presión arterial en la población de estudio (Iwai *et al.*, 2001). Por otra parte Morris *et al.*, en 2001, en población caucásica reportaron la asociación del alelo G con sobrepeso e hipertensión.

En el análisis de los genotipos del SNP rs5718 del gen *SCNN1G* con los parámetros clínicos y bioquímicos, se observaron diferencias en el porcentaje de hidratación,

los individuos con el genotipo A/A tienen una hidratación menor en comparación con los individuos portadores del genotipo G/G, en estudios previos donde se ha analizado la funcionalidad del promotor, han demostrado que la presencia del alelo G, incrementa la transcripción del ARNm. Esto supondría un aumento en la cantidad de proteína, y tal vez al haber un exceso de proteína el canal sea poco o medianamente funcional y la absorción de agua y sodio se vea alterada y como consecuencia la hidratación es mayor (Iwai *et al.*, 2001).

Para el SNP rs4073291 del gen *SCNN1G*, el genotipo más frecuente en la población fue el T/T (30%) y el alelo T (58%). Posteriormente, se hizo un análisis para determinar el OR para el alelo G y fue de 1.7, IC_{95%} (1.2 - 2.4), $p=0.002$; para el genotipo G/G el OR fue de 3.41, IC_{95%} (1.5 - 7.7), $p=0.001$, ambos se relacionaron con el aumento de la presión arterial. Dichos datos coinciden con lo publicado por Jin *et al.*, en 2010, en un estudio realizado en una cohorte de 8,842 individuos de origen Coreano, estratificados en casos con presión $\geq 140/90$ mm Hg y controles presión $< 120/80$ mm Hg. Observaron que los portadores del alelo G tenían aumentado la PAS y PAD y un mayor riesgo de hipertensión. Sin embargo, esto difiere con Zhao *et al.*, en 2011 en un estudio de intervención en 1,906 chinos de la población Han, con un rango de edad de 18-60 años. Los participantes estuvieron 3 días en observación y posterior a esto, recibieron siete días una dieta baja en sodio (1,179.9 mg/día), seguido de siete días con una dieta alta de sodio (7,079.4 mg/día). Concluyendo que las personas portadoras del alelo G, disminuyeron su presión arterial sistólica durante la intervención baja en sodio (Zhao *et al.*, 2011). Al analizar los parámetros clínicos, bioquímicos y nutricionales con los genotipos del polimorfismo rs4073291 del gen *SCNN1G*, se observaron diferencias estadísticamente significativas en la presión arterial sistólica. Sin embargo, este polimorfismo se encuentra en un sitio intrónico, dicha región no forma parte de la transcripción primaria del ARN y por lo tanto, no tiene efecto a nivel proteico. En los mamíferos, la mayoría de genes presentan regiones en el ADN denominadas “regiones amplificadoras”, las cuales tienen el control de la transcripción y se ubican cerca o dentro de los intrones (Lodish *et al.*, 2005). Lo que nos lleva a suponer que al no encontrar un efecto biológico en la proteína, podría ser considerado como un

marcador molecular, el cual puede estar ligado a una región que si tiene impacto en la regulación de la presión arterial.

De acuerdo a lo datos obtenidos que se analizaron por el software nutrimind, se catalogó el consumo de sodio mayor a 2 gramos como alto y se relacionó con los genotipos del canal epitelial de sodio (ENaC) y la presión arterial elevada. Cabe mencionar que en el modelo de interacción se eliminó las variables de IMC, edad y género, factores que se han visto que influyen en la presión arterial. Se observó que el genotipo G/G del SNP rs4073291, fue el único que refirió riesgo (OR=5.06, IC95% (1.76-14.57), $p=0.003$). Lo que indica, que los individuos con dicho genotipo, que consumen altas cantidades de sodio independientemente de los factores antes mencionados, tienen un riesgo mayor a desarrollar hipertensión (Kearney *et al.*, 2005). En modelos murinos se ha observado que la carga de sal prolongada provoca efectos en el endotelio vascular, promoviendo daño como: fibrosis perivascular de las arterias coronarias e isquemia etc. (Kotchen *et al.*, 2013),

Los haplotipos inferidos para los polimorfismos rs5718 y rs4073291 del gen *SCNN1G* fueron; el AG con un 43% y el AT con un 44%. Para el haplotipo AG el OR fue de 1.47 y para el haplotipo AT el OR fue de 0.65, ambos haplotipos poseen el alelo A que en otras poblaciones se les ha atribuido la disminución de la presión arterial, pero en nuestra población de estudio no se asoció. Mientras que el haplotipo AG nos refirió riesgo, cabe mencionar que al alelo G se le ha atribuido el aumento de la presión arterial en diversas poblaciones de estudio (Iwai *et al.*, 2001; Jin *et al.*, 2010; Morris *et al.*, 2001; Zhao *et al.*, 2011). Lo que nos hace confirmar que los resultados obtenidos anteriormente del SNP y la presión arterial se relacionan.

El DL de los SNPs rs5718 y rs4073291 del gen *SCNN1G* fue altamente ligado, es decir los alelos segregan juntos en la meiosis.

La hipertensión es una enfermedad genética compleja, poligénica y multifactorial. Con el presente estudio se demostró que las variaciones en el ENaC y el consumo elevado de sodio son factores atribuibles al aumento de la presión arterial. Sin embargo, se debe de considerar que la población de estudio fueron adultos jóvenes que no padecen hipertensión. La recomendación para esta población sería,

monitorear constantemente su presión arterial, así como sus hábitos alimenticios, evitando el consumo excesivo de sodio y teniendo una vida menos sedentaria y más activa. Con esto, tal vez se reduciría la progresión a la hipertensión y las complicaciones que implican se asocian con esta enfermedad.

Conclusiones

- El consumo de sodio en hombres entre 19-22 años en la población del estado de Guerrero es de 3.3 g.
- El SNP rs1799979 del gen *SCNN1B* es monomórfico en la población del estado de Guerrero.
- El consumo elevado de sodio y el genotipo G/G del SNP rs4073291 del gen *SCNN1G*, se asoció con presión arterial sistólica alta y presentan un riesgo de 3.08, para desarrollar hipertensión arterial.
- El haplotipo AG de los SNPs rs5718 y rs4073291 en el gen *SCNN1G* se asoció con la presión arterial alta.
- Los SNPs rs5718 y rs4073291 ubicados en el gen *SCNN1G* de la subunidad gamma del ENaC están fuertemente ligados.

Referencias bibliográficas

- Adrogué H., Madias N., 2007. Sodium and potassium in the pathogenesis of hypertension. *N. Engl. J. Med.* 356, 1966–1978.
- Ardiles L., Mezzano S., 2010. Rol del riñón en la hipertensión sal-sensible. *Rev. Médica Chile* 138.
- Azad A., Rauh R., Vermeulen F., *et al.*, 2009. Mutations in the amiloride-sensitive epithelial sodium channel in patients with cystic fibrosis-like disease. *Hum. Mutat.* 30, 1093–1103.
- Bankir L., Bichet D., Bouby N., 2010. Vasopressin V2 receptors, ENaC, and sodium reabsorption: a risk factor for hypertension? *AJP Ren. Physiol.* 299, F917–F928.
- Barquera S., 2010. Alarman casos de hipertensión por consumo de sal. *El Sol México*.
- Barquera S., Campos-Nonato I., Hernández-Barrera L., *et al.*, 2010. Hypertension in Mexican adults: results from the National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud Pública México* 52 Suppl 1, S63–71.
- Bartoshuk L., Duffy V., Miller, I., 1994. PTC/PROP tasting: anatomy, psychophysics, and sex effects. *Physiol. Behav.* 56, 1165–1171.
- Bhalla V., Hallows K., 2008. Mechanisms of ENaC regulation and clinical Implications. *J. Am. Soc. Nephrol.* 19, 1845–1854.
- Büsst, C., 2013. Blood pressure regulation via the epithelial sodium channel: From gene to kidney and beyond. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 40, 495–503.
- Butterworth M., 2010. Regulation of the epithelial sodium channel (ENaC) by membrane trafficking. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis.* 1802, 1166–1177.
- Chobanian A., Bakris G., Black, H.R., *et al.*, 2003. The National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 42, 1206–1252.
- Cui Y., Su Y., Rutkowski M., *et al.*, 1997. Loss of protein kinase C inhibition in the beta-T594M variant of the amiloride-sensitive Na⁺ channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94, 9962–9966.
- Doaei S., Gholamalizadeh M., 2014. The association of genetic variations with sensitivity of blood pressure to dietary salt: A narrative literature review. *ARYA Atheroscler.* 10, 169–174.
- Dong Y., Zhu D., Baker H., *et al.*, 2001. T594M and G442V polymorphisms of the sodium channel beta subunit and hypertension in a black population. *J. Hum. Hypertens.* 15, 425–430.
- Felder A., White J., Williams M., *et al.*, 2013. Diagnostic tools for hypertension and salt sensitivity testing: *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 22, 65–76.

- Grandjean A., Campbell M., 2004. International Life Sciences Institute. Hydration: fluids for life. ILSI North América, Washington (D.C.).
- Gupta D., Girish P., Sikdar S., *et al.*, 2014. β -T594M epithelial sodium channel gene polymorphism and essential hypertension in individuals of Indo-Aryan ancestry in Northern India. *Indian Heart J.* 66, 397–400.
- Häussinger D., 1996. The role of cellular hydration in the regulation of cell function. *Biochem J.* 313, 697–710.
- Iwai N., Baba S., Mannami T., *et al.*, 2001. Association of sodium channel gamma-subunit promoter variant with blood pressure. *Hypertension* 38, 86–89.
- Jin S., Hong W., Lim E., *et al.*, 2010. Genetic variations in the sodium balance-regulating genes *ENaC*, *NEDD4L*, *NDFIP2* and *USP2* Influence blood pressure and hypertension. *Kidney Blood Press. Res.* 33, 15–23.
- Kearney M., Whelton M., Reynolds K., *et al.*, 2005. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *The Lancet* 365, 217–223.
- Kellenberger S., Hoffmann-Pochon N., Gautschi I., *et al.*, 1999. On the molecular basis of ion permeation in the epithelial Na⁺ channel. *J. Gen. Physiol.* 114, 13–30.
- Konstas A., Korbmacher C., 2003. The gamma-subunit of ENaC is more important for channel surface expression than the beta-subunit. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 284, C447–456.
- Kotchen A., Cowley W., Frohlich D., 2013. Salt in health and disease — A delicate balance. *N. Engl. J. Med.* 368, 1229–1237.
- Laaksonen E., Nuutinen J., Lahtinen T., *et al.*, 2003. Changes in abdominal subcutaneous fat water content with rapid weight loss and long-term weight maintenance in abdominally obese men and women. *Int. J. Obes.* 27, 677–683.
- Landsberg L., Aronne J., Beilin J., *et al.*, 2013. Obesity-related hypertension: pathogenesis, cardiovascular risk, and treatment: A position paper of The Obesity Society and the American Society of Hypertension. *J. Clin. Hypertens.* 15, 14–33.
- Lavizzo-Mourey R., Johnson J., Stolley P., 1988. Risk factors for dehydration among elderly nursing home residents. *J. Am. Geriatr. Soc.* 36, 213–218.
- Lee H., Campbell R., Cook I., *et al.*, 2008. Regulation of epithelial Na⁺ channels by aldosterone: role of Sgk1: Regulation of ENaC by Sgk1. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 35, 235–241.
- Loffing J., Korbmacher C., 2009. Regulated sodium transport in the renal connecting tubule (CNT) via the epithelial sodium channel (ENaC). *Pflüg. Arch. - Eur. J. Physiol.* 458, 111–135.
- Lomelí C., Rosas M., Mendoza G., *et al.*, 2008. Hipertensión arterial sistémica en la mujer v. 78, supl. 2, p. 98–103.

- Marunaka Y., 2014. Characteristics and pharmacological regulation of epithelial Na⁺ channel (ENaC) and epithelial Na⁺ transport. *J. Pharmacol. Sci.* 126, 21–36.
- McCall O., McGartland P., McKinley C., *et al.*, 2009. Dietary intake of fruits and vegetables improves microvascular function in hypertensive subjects in a dose-dependent manner. *Circulation* 119, 2153–2160.
- Mertens L., van Gaal F., 2000. Overweight, obesity, and blood pressure: The effects of modest weight reduction. *Obes. Res.* 8, 270–278.
- Miller A., Dykes D., Polesky F., 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells 16, 3.
- Morris J., Benjafield V., Ishikawa K., *et al.*, 2001. Polymorphism (-173G/A) in promoter of human epithelial sodium channel gamma subunit gene (*SCNN1G*) and association analysis in essential hypertension. *Hum. Mutat.* 17, 157–157.
- Noh H., Paik H.-Y., Kim J., *et al.*, 2013. Salty taste acuity is affected by the joint action of α ENaC A663T gene polymorphism and available Zinc intake in young women. *Nutrients* 5, 4950–4963.
- Olaiz G., 2006. Encuesta nacional de salud y nutrición 2006, 2. ed. ed. Instituto Nacional de Salud Pública: Secretaría de Salud, Cuernavaca, Morelos, México.
- OMS, 2013. Ingesta de sodio en adultos y niños.
- Oparil S., Miller P., 2005. Gender and Blood Pressure. *J. Clin. Hypertens.* 7, 300–309.
- Ortega M., López-Sobaler M., Ballesteros M., *et al.*, 2011. Estimation of salt intake by 24 h urinary sodium excretion in a representative sample of Spanish adults. *Br. J. Nutr.* 105, 787–794.
- Pratt H., 2005. Central role for ENaC in development of hypertension. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 16, 3154–3159.
- Rahmouni K., Correia G., Haynes G., *et al.*, 2005. Obesity-associated hypertension: New insights into mechanisms. *Hypertension* 45, 9–14.
- Rodriguez F., 2006. Hipertensión arterial sistémica y sensibilidad 76, 161–163.
- Saad F., Rewers M., Selby J., *et al.*, 2004. Insulin resistance and hypertension: The insulin resistance atherosclerosis study. *Hypertension* 43, 1324–1331.
- Sanada H., Jones E., Jose A., 2011. Genetics of salt-sensitive hypertension. *Curr. Hypertens. Rep.* 13, 55–66.
- Sánchez A., Ayala M., Baglivo H., *et al.*, 2010. Guías Latinoamericanas de Hipertensión Arterial 29, 117–144.
- Scherrer U., Randin D., Vollenweider P., *et al.*, 1994. Nitric oxide release accounts for insulin's vascular effects in humans. *J. Clin. Invest.* 94, 2511–2515.
- Shimkets A., Lifton R., Canessa M., 1998. In vivo phosphorylation of the epithelial sodium channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 3301–3305.

- Soundararajan R., Pearce D., Hughey P., *et al.*, 2010. Role of epithelial sodium channels and their regulators in hypertension. *J. Biol. Chem.* 285, 30363–30369.
- Staub O., Abriel H., Plant P., *et al.*, 2000. Regulation of the epithelial Na⁺ channel by Nedd4 and ubiquitination. *Kidney Int.* 57, 809–815.
- Sun Y., Zhang J., Zhao D., *et al.*, 2011. Role of the epithelial sodium channel in salt-sensitive hypertension. *Acta Pharmacol. Sin.* 32, 789–797.
- Warnock G., Kusche-Vihrog K., Tarjus A., *et al.*, 2014. Blood pressure and amiloride-sensitive sodium channels in vascular and renal cells. *Nat. Rev. Nephrol.* 10, 146–157.
- Xu H., Li N., Hong J., *et al.*, 2009. [Relationship between four single nucleotide polymorphisms of epithelial sodium channel alpha subunit gene and essential hypertension of Kazakhs in Xinjiang]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 31, 740–745.
- Yang X., He J., Gu D., *et al.*, 2014. Associations of epithelial sodium channel genes with blood pressure changes and hypertension incidence: The GenSalt study. *Am. J. Hypertens.* 27, 1370–1376.
- Zárate H., Valenzuela A., 2012. Sodium-potassium balance in the regulation of high blood pressure. *Medwave* 12, e5301–e5301.
- Zehnder C., 2010. Sodio, potasio e hipertensión arterial. *Rev Med ClinCondes* 21(4), 508–515.
- Zhao Q., Gu D., Hixson E., *et al.*, 2011. Common variants in epithelial sodium channel genes contribute to salt sensitivity of blood pressure: The GenSalt study for the genetic epidemiology network of salt sensitivity collaborative Research Group. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 4, 375–380.
- Zhou S., Schulman H., Zeng Q., 2012. Link between the renin-angiotensin system and insulin resistance: Implications for cardiovascular disease. *Vasc. Med.* 17, 330–341.
- Zhou S., Wang A., Yu H., 2014. Link between insulin resistance and hypertension: What is the evidence from evolutionary biology? *Diabetol. Metab. Syndr.* 6, 12.
- Zhou R., Patel V., Snyder M., 2007. Nedd4-2 catalyzes ubiquitination and degradation of cell surface ENaC. *J. Biol. Chem.* 282, 20207–20212.

ANEXO 1

Encuesta de frecuencia de consumo de alimentos

LEA TODOS LOS ALIMENTOS			FRECUENCIA DE CONSUMO									
			Días a la semana				Diario Veces al día				c) ¿Cuánto comió (tomó) cada vez de: ?	
ALIMENTO	PORCIÓN	COLUMNA DE APOYO*	b) ¿Cuántas veces al día comió?								Total de porciones por vez de consumo	
			Nunca	1	2-4	5-6	1	2-3	4-5	6		
			(01)	(02)	(03)	(04)	(05)	(06)	(07)	(08)		
PRODUCTOS LÁCTEOS												
A / B												
1	Leche	1 vaso (240 ml)	.	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
2	Queso	1 rebanada (30 g)	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
3	Yogurth	1 vasito (150 ml)	_	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
FRUTAS												
4	Plátano	1 pieza mediana (116g)	.	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
5	Sandía	1 rebanada pequeña ó _ taza (100g)	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
6	Mandarina	1 pieza mediana (100g)	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
7	Manzana	1/2 pieza mediana (70g)	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
8	Melón	1 rebanada ó 3/4 taza (115g)	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
9	Naranja	1 pieza mediana (160g)	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
10	Papaya	1 rebanada (100) ó _ taza	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
11	Limón	1 pza. mediana (32 g)	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
12	_____ ()	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _	
13	_____ ()	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _	
VERDURAS												
14	Jitomate	1/2 pieza (30g) en ensalada, salsa ó quisado	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
15	Lechuga	_ taza o 1 hoja (30 g)	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
16	Nopales	1 pza. grande (100g) ó _ taza	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
17	Pepino	1/3 pieza grande (100g) ó _ taza	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
18	Tomate	1 pieza chica (20g) en salsa o guisado	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
19	Cebolla	1 rodaja (6g)	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
20	Chayote	1/4 pieza peq. (50g) ó 1/3 taza	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
21	Chile	1/2 pza med. (1.5 g) ó 1 1/2 oda sop. de salsa picante	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
22	Zanahoria	1 pieza chica (50g)	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
23	Calabacitas	1 pieza chica (50g)	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
24	_____ ()	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _	
25	_____ ()	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _	
CARNES, HUEVO Y EMBUTIDOS												
26	Carne de puerco	1/2 bistec (45)	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
27	Carne de res	1/2 bistec (45)	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _
28	Embutidos	1 salchicha o 1 reb. de jamón (30g)	_ _	01	02	03	04	05	06	07	08	_ _ _ _ _ _ _



ANEXO2

Consentimiento informado



Proyecto: "Interacción del consumo de sal con polimorfismos en el canal epitelial de sodio y su relación con presión arterial alta en población Guerrerense".

Al firmar este documento doy mi consentimiento para que un miembro del personal del Laboratorio de Investigación en Obesidad y Diabetes de la Facultad de Ciencias Químicas Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero ubicada en Av. Lázaro Cárdenas S/N, Chilpancingo, Gro., me realice una toma de muestra sanguínea suficiente para los estudios de laboratorio que se practicarán.

El objetivo del estudio es evaluar la interacción del consumo de sal con polimorfismos en el canal epitelial de sodio y su relación con presión arterial alta en población Guerrerense.

Declaro que se me informo de los posibles riesgos, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio. El investigador se ha comprometido a responder a cualquier pregunta aclarar cualquier duda que pueda surgir a carga de los procedimientos que se llevaran a cabo o cualquier otro asunto relacionado con la investigación. Como también me da la seguridad de que no me identificará en las presentaciones o publicaciones que se deriven de este estudio y que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial, también se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada durante el estudio. Como compensación de mi participación en este estudio me serán proporcionados los resultados de los análisis practicados sin costo alguno. Para cualquier duda podré comunicarme al laboratorio de investigación en Obesidad y Diabetes de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la UAG.

NOMBRE Y FIRMA DEL PACIENTE: _____

NOMBRE Y FIRMA DEL ENTREVISTADOR: _____

ANEXO 3

Extracción de ADN genómico a partir de leucocitos

Técnica de Miller modificada

1. Tomar 3 mL de sangre periférica con anticoagulante EDTA (Ácido-etilendiamino-tetra-acético) en un tubo falcón estéril, adicionando posteriormente la misma cantidad de TTS (tritón, tris base y sacarosa).
2. Centrifugar a 3500 rpm durante 15 min.
3. Decantar el sobrenadante en un vaso con hipoclorito de sodio, hasta que solamente quede el botón de celular en el tubo.
4. Agregar al tubo 1 mL de TTS y liberar el botón a la superficie dando unos golpecitos en la base del tubo.
5. Transferir el botón a un tubo Eppendorf de 1.5 mL estéril.
6. Agitar el tubo hasta que se disuelva el botón y homogenizar en el vórtex de 2 a 3 minutos hasta disolución completa.
7. Centrifugar a 12000 rpm durante 5 min.
8. Decantar y adicionar nuevamente 1 mL de TTS.
-Repetir los paso 6,7 y 8 hasta que el botón quede blanco.
9. Agregar al tubo Eppendorf 570 μ L de NaCl al 5 mM.
10. Homogenizar en el vórtex durante 2 min.
11. Adicionar 30 μ L de SDS (Dodecil sulfato de sodio) al 10%.
12. Homogenizar en el vórtex durante 15 min.
13. Agregar 200 μ L de NaCl saturado.
14. Homogenizar en el vórtex durante 15 min.
15. Centrifugar a 11500 rpm a una temperatura de 4°C durante 30 min.
16. Decantar el sobrenadante en 500 μ L de etanol absoluto frio, cuidando que no se vaya el botón.
17. Dejar precipitar toda la noche a -20°C.
18. Recuperar el ADN con la punta de la pipeta y transferirlo a un tubo Eppendorf con 500 μ L de etanol al 70%.

19. Posteriormente centrifugar a 12000 rpm a 4°C durante 10 min.
20. Sobre gasas estériles colocar el tubo boca abajo hasta que se evapore el etanol.
21. Una vez seco el tubo, se adicionan 300 µL de agua inyectable estéril y se homogeniza el botón.
22. Almacenar las muestras de ADN a -20°C.